

$\alpha v \beta 3$ 的适体靶向纳米探针的临床前研究及临床转化

袁颖¹, 朱培¹, 韩静¹, 牛蕾²

1. 菏泽市立医院乳腺外科, 山东 菏泽 274000

2. 厦门大学附属翔安医院, 福建 厦门 361000

DOI:10.61369/MRP.2025110022

摘要 : 整合素 $\alpha v \beta 3$ 作为肿瘤血管生成和侵袭转移过程中的关键分子, 在多种恶性肿瘤细胞表面及其新生血管内皮细胞上特异性高表达, 已成为肿瘤靶向诊疗的理想靶点。将高亲和力、高特异性的适体与功能多样的纳米材料相结合, 构建 $\alpha v \beta 3$ 靶向纳米探针, 已成为分子影像与靶向治疗领域的前沿研究方向。这类新型探针巧妙结合了适体的优异靶向性能和纳米材料的信号放大与多功能载药优势, 在肿瘤的精准成像、疗效评估及协同治疗方面展现出巨大应用潜力。本综述系统阐述了靶向 $\alpha v \beta 3$ 适体的筛选与优化策略, 归纳了基于不同成像模式的纳米探针的构建方法及其在临床前肿瘤模型中的研究进展, 并重点剖析了该类探针在迈向临床转化过程中面临的关键科学问题、技术瓶颈及可能的解决策略。

关键词 : 整合素 $\alpha v \beta 3$; 适体; 纳米探针; 分子影像; 诊疗一体化

Preclinical Research and Clinical Translation of Aptamer-Targeted Nanoprobes for $\alpha v \beta 3$

Yuan Ying¹, Zhu Pei¹, Han Jing¹, Niu Lei²

1. Department of Breast Surgery, Heze Municipal Hospital, Heze, Shandong 274000

2. Xiang'an Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen, Fujian 361000

Abstract : Integrin $\alpha v \beta 3$, as a key molecule in tumor angiogenesis and invasion/metastasis processes, is highly and specifically expressed on the surface of various malignant tumor cells and neovascular endothelial cells, making it an ideal target for tumor-targeted diagnosis and therapy. The combination of high-affinity, highly specific aptamers with multifunctional nanomaterials to construct $\alpha v \beta 3$ -targeted nanoprobes has become a cutting-edge research direction in the fields of molecular imaging and targeted therapy. These novel probes ingeniously integrate the superior targeting properties of aptamers with the signal amplification and multifunctional drug-loading advantages of nanomaterials, demonstrating significant potential in precise tumor imaging, therapeutic efficacy evaluation, and combination therapy. This review systematically elaborates on the screening and optimization strategies of $\alpha v \beta 3$ -targeted aptamers, summarizes the construction methods of nanoprobes based on different imaging modalities and their research progress in preclinical tumor models, and critically analyzes the key scientific challenges, technical bottlenecks, and potential solutions in the clinical translation of such probes.

Keywords : integrin $\alpha v \beta 3$; aptamer; nanoprobes; molecular imaging; theranostics

引言

分子影像技术能够无创、实时、在体地可视化疾病相关的分子与细胞事件, 为肿瘤的早期发现、精准分期及疗效监测提供了强有力的工具。在这一技术中, 高性能的靶向分子探针是决定其成败的核心要素之一。整合素 $\alpha v \beta 3$ ^[1] 是一种重要的细胞粘附分子, 在活化的肿瘤血管内皮细胞以及多种恶性肿瘤细胞 (如胶质母细胞瘤、黑色素瘤、乳腺癌、胰腺癌) 表面特异性高表达, 而在正常静息血管和大多数正常组织中表达极低或不表达。 $\alpha v \beta 3$ 通过介导细胞与细胞外基质的相互作用, 在肿瘤血管生成、侵袭和转移过程中扮演着核心角色, 使其成为肿瘤靶向诊断与治疗极具吸引力的分子靶点。

适体 (Aptamer) 是一类通过体外筛选技术 (指数富集的配体系统进化技术, SELEX) 获得的小分子单链 DNA 或 RNA oligonucleotide, 能够以高亲和力和特异性与特定靶标 (如蛋白质、细胞等) 结合, 因此被誉为 “化学抗体”。与抗体相比, 适体优势

项目名称: 靶向 $\alpha v \beta 3$ 的适体荧光探针在乳腺癌保乳切缘评估中的临床前研究

项目编号: 2024YN56

作者简介: 袁颖 (1989.11—), 男, 汉族, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主治医师, 从事乳腺肿瘤临床及基础研究工作。

有：分子量小，易于化学合成与修饰，批次间差异小，免疫原性低，组织穿透性强，且其靶标范围更为广泛。另一方面，纳米材料因其独特的光、电、磁、热学性质及优异的药物负载能力，可作为理想的信号载体或治疗药物递送平台。将 $\alpha v \beta 3$ 特异性适体作为“导航头”与功能化纳米材料作为“运载平台”进行偶联，所构建的“适体靶向纳米探针”能够实现优势互补与协同增效，不仅显著提升了探针的靶向效率和信噪比，还为集成诊断与治疗功能的“诊疗一体化”提供了创新解决方案，展现出巨大的临床转化前景。

一、 $\alpha v \beta 3$ 特异性适体的筛选与优化

获得高特异性、高亲和力的适体是构建高效靶向纳米探针的基础。目前，研究人员主要以纯化的 $\alpha v \beta 3$ 蛋白或高表达 $\alpha v \beta 3$ 的活细胞为靶标，利用 SELEX 技术进行筛选。经典的 SELEX 流程包括：构建随机寡核苷酸文库、与靶标孵育、分离结合序列、PCR 扩增、以及进行多轮（通常为 10–20 轮）富集筛选，最终通过对富集库进行测序和结合试验鉴定出高亲和力适体。例如，著名的 Apt- $\alpha v \beta 3$ 就是通过以纯化的 $\alpha v \beta 3$ 蛋白为靶标筛选得到的^[2]。

直接从 SELEX 筛选获得的初始适体往往不一定具备最优的体内应用性能。因此，后续的优化工作至关重要。优化策略主要包括：

1. 序列截短与修饰：通过分析适体的二级和三级结构，去除与靶标结合无关的序列片段。得到更短、更稳定、更易于合成的核心序列。

2. 化学修饰：对适体骨架或碱基进行化学修饰是提高其稳定性的关键手段。例如，在 RNA 适体的 2' - 位进行氟代（2' -F）或甲氧基（2' -O-Me）修饰，或将 DNA 适体骨架中的磷酸二酯键替换为硫代磷酸酯键或肽核酸（PNA）骨架，均可显著增强其对血清中核酸酶的抵抗能力，延长其在血液循环中的半衰期。

3. 亲和力成熟：通过定点突变或引入非天然碱基库，对适体结合区域进行随机或定向突变，然后从中筛选出亲和力更高的变体。

经过上述优化，可以获得解离常数（Kd）达到纳摩尔甚至皮摩尔水平、具有良好稳定性的 $\alpha v \beta 3$ 高特异性适体，为构建高性能的体内纳米探针奠定了坚实的分子基础。

二、 $\alpha v \beta 3$ 适体靶向纳米探针的临床前研究进展

基于不同的成像模态和治疗需求，研究人员设计了多种多样的 $\alpha v \beta 3$ 适体靶向纳米探针，并在荷瘤小鼠等动物模型上对其靶向性、成像效果及治疗效能进行了广泛而深入的评估。

（一）用于光学成像的探针

光学成像具有高灵敏度、实时成像、操作简便和成本相对较低等优点，特别适用于术中导航和基础研究。将 $\alpha v \beta 3$ 适体与荧光染料或纳米发光材料偶联，可实现肿瘤的灵敏检测。

量子点探针：量子点（QDs）具有荧光亮度高、斯托克斯位

移大、抗光漂白性强和发射光谱可调等优异光学性质。研究显示，将 $\alpha v \beta 3$ 适体通过化学交联修饰在量子点表面，构建的靶向探针能通过增强的渗透与滞留效应（EPR 效应）和主动靶向作用，高效富集于肿瘤部位，实现高信噪比的肿瘤荧光成像。

上转换纳米颗粒探针：上转换纳米颗粒（UCNPs）能够将长波长、低能量的近红外光（如 980 nm）转换为短波长、高能量的可见光或紫外光。这种反斯托克斯发光特性有效避免了生物组织自发荧光的干扰，并显著提高了组织穿透深度。 $\alpha v \beta 3$ 适体靶向的 UCNPs 探针在近红外光激发下，能实现对皮下瘤和深部肿瘤的高对比度、低背景成像，显示出在活体深层组织成像中的巨大潜力。

（二）用于磁共振成像的探针

磁共振成像（MRI）以其无辐射、高空间分辨率和优异的软组织对比度而著称。将 $\alpha v \beta 3$ 适体与 MRI 对比剂负载的纳米颗粒结合，可实现对肿瘤的精准定位。

超顺磁性氧化铁纳米颗粒探针：超顺磁性氧化铁（SPIO）纳米颗粒是强效的 T2 加权像负性对比剂。将 $\alpha v \beta 3$ 适体功能化修饰到 SPIOs 表面，静脉注射后，探针能特异性聚集在表达 $\alpha v \beta 3$ 的肿瘤血管和细胞周围，导致局部磁场不均匀，在 T2 或 T2* 加权像上引起信号显著降低（暗化效应），从而精确勾勒出肿瘤的边界和范围。这类探针不仅用于肿瘤诊断，还可通过监测信号变化来无创评估抗血管生成药物的疗效。

（三）用于核素成像的探针

单光子发射计算机断层成像（SPECT）和正电子发射断层成像（PET）是灵敏度极高的核素成像技术，可实现全身、定量检测。通过将放射性核素标记到 $\alpha v \beta 3$ 适体或其修饰的纳米载体上，可实现肿瘤及其转移灶的全身显像。

直接标记适体：将放射性核素（如 ^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{18}F ）通过螯合剂直接标记到适体上，可实现快速的靶向和成像，背景信号低。

纳米载体标记：将放射性核素负载或标记于适体靶向的纳米颗粒（如脂质体、聚合物胶束）上。有利于延迟成像和提高图像信噪比，甚至可用于内照射放疗。

（四）多模态成像与诊疗一体化探针

单一成像模式各有其局限性。将 $\alpha v \beta 3$ 适体与兼具多种成像功能的纳米平台结合，可构建多模态成像探针，实现信息互补。例如，将 MRI 对比剂（如 Gd^{3+} 螯合物）和荧光染料共同负载于介孔二氧化硅纳米颗粒，并用 $\alpha v \beta 3$ 适体进行靶向修饰，可同时获得

高分辨率的解剖学信息 (MRI) 和高灵敏度的光学信号, 用于术前精准定位和术中实时导航。

更进一步, 将治疗组分 (如化疗药物、siRNA、光热剂或光敏剂) 与成像组件整合于同一纳米平台, 便形成了诊疗一体化探针。例如:

化疗-成像一体化: 将化疗药物阿霉素负载于适体靶向的脂质体或树状大分子中, 在 MRI 或荧光成像指导下进行药物递送, 并可实时监测药物分布和疗效^[3]。

光热治疗-成像一体化: $\alpha\text{v}\beta3$ 适体靶向的金纳米棒或二维纳米材料 (如黑磷), 既能通过表面增强拉曼散射或光声成像进行诊断, 又能在近红外激光照射下产生局部高热, 消融肿瘤细胞, 实现影像指导下的精准光热治疗。

(五) 靶向性荧光探针用于外科手术导航

2020年田捷教授团队首次在人体中实施基于 ICG 的 NIR-II 荧光成像技术引导肝癌手术切除。使得该新兴成像技术实现了里程碑式的发展^[6]。杨瑞钦教授团队合成的针对 $\alpha\text{v}\beta3$ 适体 新型 NIR 荧光新型 RGD-HBc160/ICG 靶向纳米探针^[7], 具备强荧光稳定性、肿瘤特异靶向性及生物可降解的特点, 在乳腺癌小鼠模型中实现肿瘤病灶的精准识别与切除, 为乳腺癌患者保乳治疗提供可视化手术导航平台 (图 1.1)。

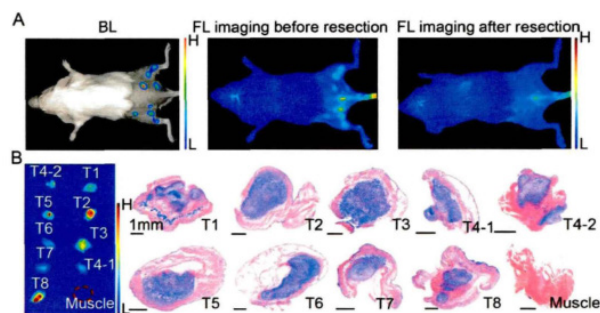


图 1.1 4T1-luc 荷瘤小鼠术前生物发光成像图, 静脉注射 R&HV-Gd@ICG 行肿瘤切除前后 NIR-II 荧光成像图 (A); 切除肿瘤组织的体外荧光成像及相应的 H/E 染色图像 (B)

三、临床转化面临的挑战与对策

尽管 $\alpha\text{v}\beta3$ 适体靶向纳米探针在临床前研究中取得了令人瞩目的成果, 但其从实验室走向临床应用仍面临一系列严峻挑战。

(一) 安全性与生物相容性

这是纳米药物临床转化的首要门槛。纳米材料本身可能存在的长期毒性、免疫原性、体内代谢途径不清以及潜在的组织蓄积毒性是主要担忧^[4]。

对策:

材料选择: 优先选用生物可降解或生物相容性已获临床验证的材料, 如聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA)、脂质体、人血清白蛋白等。

表面工程: 通过聚乙二醇 (PEG) 化等亲水性聚合物进行表面修饰, 形成“隐形”涂层, 减少网状内皮系统的识别与清除,

延长血液循环时间, 并降低肝、脾等器官的非特异性摄取。

系统毒理学评价: 必须进行全面、规范符合 GLP 标准的急毒性、亚急性、慢性毒性和遗传毒性研究, 系统评估探针在不同器官组织的分布、蓄积、降解代谢途径和最终排泄情况。

(二) 规模化生产与质量可控性

临床级探针的生产要求严格的批次间一致性和可重复性。适体的化学合成与修饰、纳米颗粒的制备、功能分子的偶联工艺等环节复杂, 任何微小的变动都可能影响最终产品的性能。

对策:

工艺标准化: 建立从原料控制到最终产品的全套标准化、符合药品生产质量管理规范 (GMP) 的操作规程和质量控制标准。

简化设计: 开发简便、高效、重现性好的“一锅法”合成或偶联策略, 减少生产步骤, 降低不确定性。

先进表征技术: 运用动态光散射、透射电镜、高效液相色谱等多种技术手段, 对探针的尺寸、形貌、表面电荷、适体密度、载药量等关键参数进行精确表征。

(三) 靶向效率与肿瘤异质性

实体瘤的异质性可能导致 $\alpha\text{v}\beta3$ 表达不均, 部分肿瘤区域或转移灶可能不表达该靶点, 导致探针无法有效富集, 产生假阴性结果。此外, 实体瘤内部的高间质压、致密的细胞外基质和异常的血管系统构成了物理屏障, 阻碍了大尺寸纳米探针的有效渗透和均匀分布。

对策:

多靶点策略: 设计同时靶向 $\alpha\text{v}\beta3$ 和另一个或多个肿瘤相关标志物 (如 VEGFR2, EGFR) 的双靶向或多靶向探针, 以提高对异质性肿瘤的覆盖率和靶向成功率。

尺寸与形貌优化: 系统研究纳米探针的尺寸、形状和表面性质对其体内分布、肿瘤穿透能力和药代动力学的影响, 寻找最优的设计参数。例如, 棒状或盘状纳米颗粒可能比球形颗粒具有更好的肿瘤穿透性。

(四) 监管与审批路径

适体-纳米药物属于高度创新的复杂疗法, 监管机构 (如国家药品监督管理局 NMPA、美国 FDA) 对其审评审批尚无完全成熟和统一的路径。其独特的理化特性、作用机制和体内行为对现有的评价体系提出了新挑战。

对策: 需要制药企业、学术研究机构 and 临床医生与监管机构进行早期和深入的沟通。通过召开 Pre-IND 会议等方式, 共同探讨和制定科学合理的非临床和临床研究方案, 推动建立针对此类创新产品的特异性指导原则和技术要求。

四、总结与展望

$\alpha\text{v}\beta3$ 适体靶向纳米探针作为前沿的纳米生物技术平台, 在临床前研究中已充分证明了其在肿瘤精准诊断、疗效评估及协同治

疗方面的巨大潜力和独特优势。它代表了分子影像和纳米医学向临床实用化迈进的重要方向。该领域的研究将呈现智能化、机制深化、个体化诊疗的趋势， $\alpha v\beta 3$ 适体靶向纳米探针有望克服现有瓶颈^[5]，在不久的将来成功应用于临床，为亿万癌症患者带来新的曙光。

参考文献

[1]周雨萱,葛曼宣,蔡舒玥,等.靶向整合素 $\alpha v \beta 3$ 和免疫检查点 NRP-1 的双靶点分子影像探针研究进展 [J]. 中南药学, 2025, 23(05): 1398-1403.

[2]刘灿,李媛,孙锐,等.靶向肿瘤新生血管的磁共振造影剂 RGD-USPIO 的制备及其体外成像研究 [J]. 现代生物医学进展, 2025, 25(01): 146-153.

[3]唐洁,朱楚超.粒细胞集落刺激因子对宫腔粘连子宫整合素 $\alpha v \beta 3$ 及 TYMP 表达的影响 [J]. 热带医学杂志, 2023, 23(07): 895-899+1039.

[4]夏东方. 基于铂团簇的肿瘤分析和肿瘤治疗研究 [D]. 山东农业大学, 2023.

[5]孟唤男,郭晓冬,周小翠,等.骨痛灵方通过抑制整合素 $\alpha v \beta 3$ 通路缓解肺癌骨转移癌性疼痛 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2023, 29(02): 92-100.

[6] Hu Z, Fang C, Li B, Zhang Z, Cao C, Cai M, Su S, Sun X, Shi X, Li C, Zhou T, Zhang Y, Chi C, He P, Xia X, Chen Y, Gambhir SS, Cheng Z, Tian J. First-in-human liver-tumour surgery guided by multispectral fluorescence imaging in the visible and near-infrared-I/II windows. Nat Biomed Eng. 2020 Mar;4(3):259-271.

[7]杨瑞钦. 靶向 $\alpha v \beta 3$ 受体的近红外荧光成像导引乳腺癌保乳术切缘精准评估的研究 [D]. 厦门大学, 2022.